

# ポリマー固定化エコ反応剤の開発：生理活性分子， 高機能性分子の次世代合成ストラテジー

河村保彦<sup>1\*</sup>，手塚美彦<sup>2</sup>

## Exploitation of Ecological Reagents Supported on Polymer Materials: New Synthetic Strategy of Biologically Active Molecules and Functional Materials

by

Yasuhiko KAWAMURA and Yoshihiko TEZUKA

(Received on March 17, 2004)

Chalcones with the 2'-benzyloxy group can be transformed into the corresponding isoflavones by action of polymer-supported IBD (PSIBD, poly[4-(diacetoxy)iodo]styrene) with TsOH. The advantage of the reaction is no liberation of PhI and reuse of the reagent. Meanwhile, fulleropyrrolidines have been very welcomed in a community of a fullerene science. But sometimes the synthesis ends up with disappointing yields of the products. We found that the dipolar cycloaddition of an azomethine ylide, *i.e.*, 2-phenyl-*N*-benzylideneglycine methyl ester, supported on a Wang resin, proceeded feasibly with C<sub>60</sub> and the objective fulleropyrrolidines were afforded in good yields (>75%). The method is expected to be utilized with wide range of application and it is therefore able to provide a compound library of modified fullerenes which is hard to be obtained by other methods employed so far.

In order to introduce carboxyl groups into a thermoresponsive dehydroalanine polymers and hydrogels, *N*-isobutyryldehydroalanine methyl ester (iBDHAM) were copolymerized with its carboxylic acid derivative (iBDHA) for linear polymers and with a bisdehydroalanine derivative, *N,N'*-succinylbisdehydroalanine (SBDHA) for hydrogels. The linear copolymer, P(iBDHA-*co*-iBDHAM) ([iBDHA]=23-81%), showed LCST behavior in deionized water, but the LCST values were highly polymer concentration-dependent. It is concluded that effect of carboxyl groups introduced into the polymer chain is larger in hydrogels than in linear polymer. This is probably due to the effect of dissociative carboxyl groups on the osmotic pressure of hydrogels.

**Key words:** Polymer-Supported Reagents, Isoflavonoids, Fullerenes, Thermoresponsive Polymer, Gel

1 徳島大学工学部化学応用工学科

Department of Chemical Science and Technology

Faculty of Engineering, The University of Tokushima

2 徳島大学工学部光応用工学科

Department of Optical Science and Technology

Faculty of Engineering, The University of Tokushima

\*連絡先: 〒770-8506 徳島市南常三島町 2-1

徳島大学工学部

### 1. まえがき

身の回りで働く有機分子は枚挙にいとまがない。私たちの体も有機分子のたゆまぬ消長の結果として存立する。今や1,000万を超える化学物質の中で、真に生命活動に有益な物質はいかほどあろうか。こうした物質は、大規

模な供給はいうまでもなく、それらの探索段階から多大なマンパワー、エコノミカルパワーを要する。

近年我々は有用分子の次世代型合成ストラテジー開発をねらいとして、標記の「高分子固定化エコ反応剤」について研究を進めている。この新規反応剤は、単に高分子鎖に試薬分子を接合しただけの薬剤ではない。さらに一歩進んで、安全性、再利用性、環境適合性について工夫している。例えばイソフラボノイドは、最近抗シュウウ活性、抗酸化作用、アルツハイマー病の予防と改善、骨密度低下抑制などで脚光を浴びている。その合成の鍵となる高原子価ヨウ素を基とした標記反応剤を開発した。その結果、タリウム化合物を用いた従来法に替わりうる実用性、安全性、再利用性を兼ね備えた反応剤が創出できた。また、フロンティアカーボンナノテクノロジーの寵児の1つである [60] フラーレンの化学は、毎号のように著名国際誌を飾っている。さらなる機能性の付与・向上に、フラーレン表面化学修飾は有用である。ところがその変換率は、時に極めて低い。また溶媒も多量に要する。我々はこの問題に対して、アゾメチンイリドという物質に基づく標記反応剤を考案した。その結果、収率は 20? 30 倍、溶媒をはじめとするロジスティック材料の使用量は 10 分の 1、全合成操作時間は 4 分の 1 と、大きな改善に成功した。

## 2. 結果と考察

### 2.1 高分子固定化高原子価ヨウ素反応剤を用いたイソフラボノイドの合成

大豆等、主にマメ科植物に含まれるイソフラボン類は発ガン抑制作用、抗ガン作用、骨粗しょう症やアルツハイマー病等への薬理作用等数多くの生理活性が報告され、現在では薬理学的な分野での研究が盛んである。硝酸タリウム (TTN) による 2'-ヒドロキシカルコン類 (A) からアセタール (B) への酸化転位反応<sup>(1)</sup>は、生理活性イソフラボン類 (C) の簡便な合成法として有用とされる (Scheme 1)。しかし、TTN を用いる合成法はタリウムの毒性が問題となる。そのため合成イソフラボン類の幅広い利用は制限され、現時点で主な供給は植物からの抽出に頼っている。

他方、Moriarty らは[ヒドロキシ(トシルオキシ)ヨード]ベンゼン (HTIB) が、2'-ヒドロキシ基を有しないカルコン (A) からアセタール (B) への酸化転位反応剤として作用することを報告している<sup>(2)</sup>。こうした高原子価ヨウ素試薬は比較的安全な試薬であり、近年様々な基質で有用な酸化反応が報告されている。本研究では HTIB を用いた酸化転位反応を軸に、その他の高原子価ヨウ素

反応剤及びポリマー固定化同反応剤を用いたイソフラボン合成を検討することとし、まずカルコン誘導体 (A) の酸化転位反応に対する HTIB の適用範囲について調べた。

カルコン A の置換基を変えて反応を検討した結果、ほとんどの A(a? h)は置換基の影響なくアセタール B を与えた。しかし、B を C とするために不可欠な、2'-位に水酸基が存在する A(1? 5)では反応しなかった。2'-位水酸基の保護基を検討したところ、メトキシメチル保護、アセチル保護では、どちらも少量は酸化転位が起こるものの、脱保護されたカルコンが得られた。他方、ベンゾイル保護では、高収率で B が得られた。

以上のように、HTIB はカルコン A の酸化転位反応に有用な試薬であることがわかった。しかし、HTIB のさらなる実用上の問題点は試薬自体が比較的不安定、高価なことである。そこで、安価かつより安定性の高いヨードベンゼンジアセテート (IBD) と p-トルエンスルホン酸 (TsOH) を用いて反応系中 (in situ) で HTIB を発生させたところ<sup>(3)</sup>、同様な酸化転位が起こった (この際 IBD のみでは反応しなかった)。温和な条件下、様々なカルコン A からアセタール B を高収率で得ることに成功した (Table 1)。次にカルコン A からイソフラボン C へのワンポット合成についても検討した結果、良好な収率で目的物が得られた (Table 2)。

ヨードベンゼンジアセテート (IBD) を用い、in situ で HTIB を発生させる方法は、反応剤の価格や、安定性の観点からより好ましい合成法であると考えられる。しかし、数多くのイソフラボノイドを合成し生理活性試験に供する場合、反応過程で副生するヨードベンゼンが問題となる。そこでその解決法として、ポリマー固定化 IBD (PSIBD)<sup>(4)</sup>と TsOH を用いて in situ で PSHTIB<sup>(5)</sup>を発生させたところ、様々な基質において酸化転位が起こった。条件検討をしたところ、ろ過抽出操作のみで精製されたアセタール B が高収率で得られた (Table 3)。またワンポットでイソフラボン C まで誘導できることもわかった (Table 4)。

### 2.2 ポリマー固定化アゾメチンイリドを用いたフレロピロリジンの効率的合成

フラーレン誘導体は高機能性、生理活性など様々な性質を持つため活発に研究されている<sup>(6)</sup>。一般にフラーレン誘導体は副生成物が多いため収率が低く、目的物の精製には困難を伴う。さらに、合成、単離などには大量の有機溶媒を必要とし、これは環境適合性の観点から改善の必要がある。本研究では医薬品合成などに多く用いら

れている固相合成法（コンビナトリアルケミストリー）をフラロピロリジン誘導体<sup>(7)</sup>の合成に利用することによって、上記の問題点の改良について検討した。

まず低収率の原因を探るため一般的な液相による合成を行った。誘導体の合成には安価な  $\alpha$ -アミノ酸から容易に得られるイミン **6** を用いた。得られたフラロピロリジン **7** の安定性を探るため加熱すると、逆反応が起こっていることが確認された。<sup>1</sup>H-NMR を用いて詳しく調べると *E* 体、*Z* 体の誘導体で、それぞれの熱安定性が異なることも解った。また **6** を過剰に加え収率の向上を目指したが多付加体が増えうまくいかなかった。

以上の結果から化合物 **2** は熱に弱く、溶媒の濃縮時などに収率の低下をきたしていると考えられる。この問題を解決するために固相合成法を用いた。固相合成法は使用後の溶媒をろ過することによって取り除くことができるため反応が短時間で済み、加熱濃縮の段階での損失がないと考えられた。またもう一つ固相合成法の良いと考えられた点は反応部分が適度に離れているためモノ付加体のみが得られるという事であった。実際、修飾 Wang 樹脂<sup>(8)</sup> 末端に反応部分を導入した結果、液相では 30 ~ 40% しか得られない誘導体を 90% 以上の高収率で得ることができた。しかも使用した溶媒、樹脂をとともにリサイクルすることができたのでグリーンケミストリーの観点からも好都合である。この方法はデザインされたフラーレン誘導体の合成に適していると考えられる。またフラロピロリジン以外のフラーレン誘導体にも用いることができると考えている。

### 2.3 感熱応答性ポリマーへの官能基の導入

感熱応答性ポリマーとは、温度に応答して可逆的に分子内及び分子間の相互作用を変化させ、結果としてその凝集状態や溶解度に大きな変化を引き起こすポリマーである。いくつかの両親媒性ポリマーは水中で感熱応答性を示し、低温では水和して水に溶解するが、ある温度以上では脱水和してポリマー鎖が凝集、析出する。この転移温度を下限臨界溶液温度（Lower Critical Solution Temperature; LCST）と呼ぶ。代表的な感熱応答性ポリマーとしてポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PiPAAm) が知られており、その LCST は 32 °C である。

デヒドロアラニンの *N*-アシル誘導体及びそのエステルは、キャプトデイティブ効果に起因する成長ラジカルの安定化により極めて高分子量のポリマーを与えることが知られている。また生成したポリマーは側鎖に二種類の極性基をもつ両親媒性ポリマーとなる。我々はこれま

でに種々のデヒドロアラニン誘導体を合成し、それらの重合挙動及び生成ポリマー（ゲルを含む）の外部環境応答性について報告してきた<sup>(9),(10)</sup>。その中で、側鎖にイソプロピル基を有するポリ(*N*-イソブチリルデヒドロアラニンメチルエステル) (PiBDHAM) が水中で LCST (19 °C) を示すことを見出した。

本プロジェクト研究では、この感熱応答性デヒドロアラニンポリマーにおける LCST の制御と新たな機能性の付与を目的として、ポリマー鎖へのカルボキシル基を導入を検討した。これまでに PiPAAm に対するカルボキシル基の導入に関しては多くの報告例があり、高い感度を維持するためには側鎖のイソプロピルアミド基の連続性を保持することが分子設計上重要であることが示されている<sup>(11),(12)</sup>。そこで、iBDHAM とそのカルボン酸型である iBDHA を共重合することにより PiBDHAM に任意のモル比でカルボキシル基を導入した。またゲルにおいては、ビスデヒドロアラニン構造をもつ SBDHA 及びそのメチルエステル体である SBDHAM を架橋剤として iBDHAM と共重合した。これらの温度応答性を比較することにより、リニアポリマー及びゲルの感熱応答性に対するカルボキシル基導入の影響を検討した。

実験方法を簡単に示す：すべての単独重合及び共重合は、過硫酸アンモニウムを開始剤とし DMSO 中で行った。重合温度はリニアポリマーが 30 °C、ゲルは 20 °C とした。リニアポリマーの感熱応答性は、紫外・可視吸光度計を用いて波長 500nm における透過率を測定することに

より評価した。ゲルの膨潤度は、ティーバッグ法を用いて測定した膨潤ゲルの重量( $w$ )と乾燥ゲルの重量( $w_0$ )の比( $w/w_0$ )として求めた。

合成した P(iBDHAM-co-iBDHA) はイオン交換水中で低温相溶高温相分離型の挙動を示し、その LCST は iBDHA 分率の増加とともに高温側にシフトした。また非イオン性の PiBDHAM と異なり、その LCST はポリマー濃度に大きく依存した (Fig. 1)。これは、イオン交換水中では側鎖に導入されたカルボキシル基の解離が pH 及びイオン強度にダイレクトに影響するためである。ポリマー濃度が 5 g/L 以上では LCST の濃度依存性は少なくなった。この濃度は溶液中でポリマー鎖の糸まり同士がオーバーラップする濃度に近い。このことから、ポリマー鎖が加熱により脱水和した際、5 g/L より低濃度側では分子内の凝集が優先的に起こり、分子間の凝集は部分的に解離したカルボン酸イオンの静電的反発によって抑制されるのに対し、高濃度側では初めから分子間の凝集が

起こるため LCST に大きな変化が観測されなかったと考えられる。

Fig. 2 は、溶液の pH がコポリマーの感熱応答性に与える影響を示したものである。このコポリマーにおけるカルボキシル基の導入率はモノマー当たり 0.28 である。すべてのカルボキシル基が解離するアルカリ性溶液中では温度を 80℃ まで上げて感熱応答性を示さなかった。しかしカルボキシル基が解離しない pH=1 や部分的に解離する pH=5 の溶液中では、PiBDHAM より 1℃ だけ高い温度に LCST を示した。またその転移は非常に狭い温度範囲で起こっており、カルボキシル基の解離度が低い領域では、分子構造から期待される通り高い応答感度が維持されていることがわかる。

Fig. 3 及び Fig. 4 に SBDHAM 及び SBDHA を架橋剤として用いた PiBDHAM ゲルの膨潤度の温度依存性を示す。カルボキシル基をもつ SBDHA を架橋剤に用いたゲルは、非イオン性の SBDHAM を架橋剤に用いたゲルよりも体積相転移前・後ともに 1 オーダー以上高い膨潤度を示した。しかし、ゲルの温度応答性はカルボキシル基の導入によって感度が大幅に低下し、SBDHA 架橋ゲルでは 20℃ 以上の広い温度範囲で体積変化を示した。このゲルのモノマー当たりのカルボキシル基の導入率はわずか 0.07 であるが、その影響はリニアポリマーの場合よりもはるかに大きいことがわかる。これはゲルの膨潤・収縮には浸透現象が大きな役割を果たしており、わずかなイオン性基の導入がゲルに対する浸透圧を大きく変化させるためと考えられる。

### 3. おわりに

本研究は、平成 14 年度工学部研究プロジェクトとして研究助成を賜りました。関係各位に深く感謝の意を表し、お礼申し上げます。本研究プロジェクトの推進にあたり、格別のご配慮、ご教示を頂きました本学名誉教授の堀江徳愛先生、工学部教授、津嘉山正夫先生、田中均先生には心からお礼申し上げます。また本研究は、工学研究科博士前期課程の学生諸君の献身的な努力によっています。ここに記して、感謝の意を表します。

#### 参考文献

- 1) A. McKillop, B. P. Swann and E. C. Taylor, *Tetrahedron Lett.* 5281 (1970).
- 2) R. M. Moriarty, J. S. Khosrowshahi and O. Prakash, *Tetrahedron Lett.* 26, 2961 (1985); G. F. Koser and R. H. Wettach, *J. Org. Chem.* 41, 3609 (1976).
- 3) G. F. Koser and R. H. Wettach, *J. Org. Chem.* 42, 1476 (1977).
- 4) H. Togo, G. Nogami and M. Yokoyama, *Synlett.* 534 (1998); H. Togo, S. Abe, G. Nogami and M. Yokoyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 72, 2351 (1999).
- 5) S. Abe, K. Sakuratani and H. Togo, *Synlett.* 22 (2001); S. Abe, K. Sakuratani and H. Togo, *J. Org. Chem.* 66, 6174 (2001).
- 6) M. Prato, *J. Mat. Chem.* 7, 1097 (1997); A. Hirsch, *Fullerenes and Related Structures* (Springer, Berlin, 1999).
- 7) M. Prato and M. Maggini, *Acc. Chem. Res.* 31, 519 (1998).
- 8) S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* 95, 9798 (1973).
- 9) H. Tanaka et.al., *Polymer J.* 32, 391 (2000).
- 10) Y. Tezuka et.al., *Chem. Lett.* 184 (2002).
- 11) Aoyagi et.al., *Biomater. Sci. Polym. Ed.* 11, 101 (2000).
- 12) Ebara et.al., *Macromolecules*, 33, 8312 (2000).